

VII－6

水俣湾底泥の微生物界における水銀耐性遺伝子の伝播とその環境工学への応用の可能性

東北学院大学工学部 正 員 ○遠藤銀朗
東北学院大学大学院 学生員 成田勝
科学技術振興事業団 黄 介辰

1. はじめに

自然界においては、多くの環境汚染物質が微生物によって分解され地球の物質循環経路に戻されている。このことによって汚染物質が地域的に集積されることなく環境は清浄に保たれている。したがって、微生物は生態系における化合物質の「分解者」であると同時に地球環境の「保全者」であるといえる。一例として、水俣湾のように過去における水銀化合物の人為的な大量蓄積によって汚染された地域において、そのミクロな生存環境の場の違いに応じて多種の微生物が水銀耐性能を獲得し、メチル水銀のような有機水銀を分解しさらに金属水銀へと還元して、大気環境中へと水銀を放散することによって汚染の程度を緩和したことが知られている。

我々の研究においては、さらにこれまで知られていなかったような微生物がこのような水銀耐性能をもっており、かつ種が異なるにも拘わらずほぼ完全に同一の水銀耐性遺伝子を持つことを明らかにすることができた。このことから推論して、自然界の微生物には水銀耐性遺伝子のような環境汚染に対処するための遺伝子または遺伝子群は微生物種を越えて生物間で水平に伝達されていると結論づけられた。水銀耐性遺伝子に限らず環境浄化に関与する遺伝子の微生物間での伝播のメカニズムを明らかにできれば、そのメカニズムを応用して汚染物質の除去に有用な微生物を育種したり、育種できた微生物を環境浄化に活用するシステムを開発できる可能性がある。

本発表では、微生物界におけるこのような遺伝子伝播の実例を紹介するとともに、そのような微生物の能力を環境工学上どのように利用可能かについて展望を示したい。

2. 実験材料および方法

水銀による汚染が深刻であった1984年の6月に採取された水俣湾底泥試料から、塩化水銀を加えた培地を用いることによって嫌気性水銀耐性細菌と好気性水銀耐性細菌を純粋分離した。それらの染色体を抽出して回収し、従来より知られている水銀耐性遺伝子の塩基配列に基づいて設計したプライマーDNAを用いて、PCR法によってこれらの細菌の水銀耐性遺伝子の増幅を試みた。さらに、得られたPCR産物について従来知られている水銀耐性遺伝子をプローブとしてサザンハイブリダイゼーションによって相同性を調べた。

水銀耐性遺伝子の伝播のメカニズムを探るために、これらの遺伝子が染色体上のトランスポゾンの中にコードされているかどうかを調べるために、Long PCR法によってトランスポゾン領域の増幅を行った。得られたPCR産物のトランスポゾンとしての特徴を調べるために、トランスポゾン領域の制限酵素地図の作成を行い、微生物界における水銀耐性遺伝子の伝播拡散の遺伝子としてのトランスポゾンの構造と機能を推定した。

水俣湾から分離した水銀耐性細菌の他に、微生物保存機関によって保存されている同属または同種の細菌についても水銀耐性能を調べ、水銀耐性遺伝子の細菌界における拡散について明らかにした。また、それらの保存株についても水銀耐性遺伝子の保有の状況をPCR法によって調べた。

3. 実験結果

水俣湾底泥を分離源として26株の絶対嫌気性水銀耐性細菌と1株の好気性水銀耐性細菌を純粋分離することができた。これらの細菌株は、ボストン港底泥より分離された好気性細菌*Bacillus cereus* RC607の水銀イオン還元遺伝子(*merA*)と塩基配列が99.7%相同な遺伝子を保有しており、これらの細菌の間で水銀還元遺伝子および水銀耐

性オペロン(*mer operon*)が水平伝達されたものと考えられた。また表に示したように、このような水銀耐性は水銀汚染とは直接関係のない環境から分離された保存細菌株にもみられることが明らかとなった。さらに、これらの保存菌株でも我々が分離した細菌の*mer operon*の遺伝子群と相同性の高い遺伝子を持っていることが知られた。

表 嫌気性細菌の各水銀耐性能の評価結果

菌株名	MC	MMC	TH	PMA	FMA
Mersaru	20	6	24	8	16
IFO13949	16	6	24	4	16
IFO3315	16	6	16	4	16
IFO3858	12	10	16	8	24
IFO13948	8	10	16	4	16

単位: $\mu\text{g/ml}$ 前培養時に各水銀 $0.25\text{ }\mu\text{g/ml}$ で誘導
MC:塩化水銀、MMC:塩化メチル水銀、TH:チメロサル、
PMA:酢酸フェニル水銀、FMA:フルオレセイン酢酸水銀

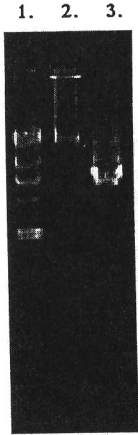


図1 トランスポゾン (レーン2) および *mer operon* (レーン3) のPCR増幅結果

上記の水銀耐性遺伝子の細菌界における伝播がどのような機構によってなされたのかについて調べたところ、これらの細菌はプラスミドを有しておらず、トランスポゾンによる伝達の可能性が考えられた。そこで、分離した好気性水銀耐性細菌のトランスポゾンを探索したところ、図1に示したようにクラスIIのトランスポゾンを持っていることと、このトランスポゾンに*mer operon*がコードされていることが明らかとなった。このトランスポゾンは図2のような制限地図を持ち、既知の*mer operon*を含めてトランスポゾン領域の制限地図には相同性がみられた。したがって、このトランスポゾンによって多くの細菌の間で*mer*遺伝子群が伝播されたと考えられる。

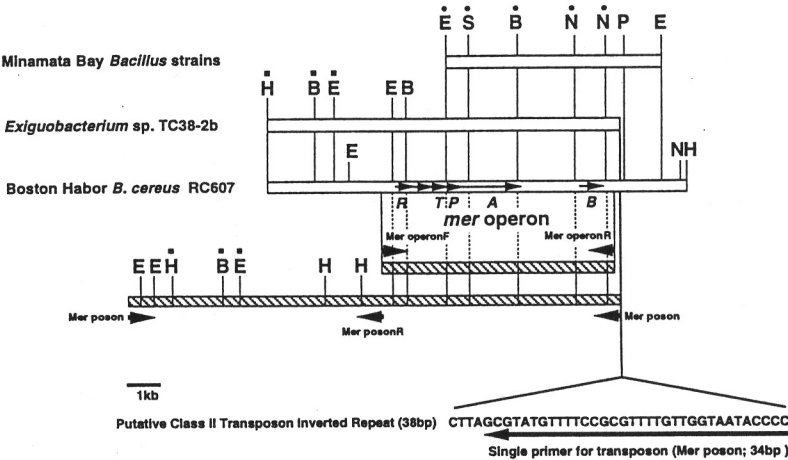


図2 水銀耐性オペロンの水平伝達単位として同定できたトランスポゾンの構成

4. おわりに

本研究で明らかにできたトランスポゾンによる遺伝子の伝播は、重金属耐性のみならず分子生物学に立脚した新しい微生物育種方法として重要になると考えられる。環境工学分野においても、環境浄化のために有用な遺伝子情報のトランスポゾンなどの自然な水平伝達システムを利用することによって、新しいバイオテクノロジーの開発が可能になると考えられる。(本研究は科学技術振興事業団の戦略的基礎研究推進事業によってなされた。)